

平成 26 年 12 月 25 日

独立行政法人理化学研究所
理事長 野依 良治 殿

研究論文に関する調査報告書

研究論文に関する調査委員会
委員長 桂 勲
委員 五十嵐 和彦
伊藤 武彦
大森 一志
久保田 健夫
五木田 彬
米川 博通

1. 調査に至る経緯

STAP 細胞に関する研究論文の疑義については、理化学研究所(以下「理研」という)が設置した「研究論文の疑義に関する調査委員会」(以下「前調査委員会」という)により、Obokata et al., Nature 505: 641-647 (2014)、および Obokata et al., Nature 505: 676-680 (2014)に係る 6 つの疑義について調査が行われた。そのうちの 2 点について、前調査委員会は 2014 年 3 月 31 日、研究不正を認定し、小保方晴子研究ユニットリーダーからの不服申立ての審査を経て、理研は、同年 5 月 8 日、小保方氏に対して Nature 505: 641-647 の取り下げ勧告を行った。

上記の 2 論文については、前調査委員会が調査をした 6 つの疑義の他にも、発生・再生科学総合研究センター(発表時。現:多細胞システム形成研究センター。以下「CDB」という)による精査により、掲載された図版に複数の疑義が指摘された。著者らが Nature 誌に対して取り下げの申し出をしたため、当該論文は同年 7 月 2 日付で Nature 誌より取り下げられた。

一方、STAP 研究で使用された試料の遺伝子解析結果から、STAP 細胞そのものに対する疑義、実験に使われたマウスの由来に対する疑義も指摘された。

複雑かつ多岐にわたるこれらの疑義の性質に鑑みて、理研は「科学研究上の不正行為の防止等に関する規程」(平成 24 年規程第 61 号)(以下「規程」という)に基づく本調査の必要性を検討するため、同年 6 月 30 日より予備調査を実施した。

予備調査により確認された複数の疑義について、事案の重要性に鑑み、理研は同年 9 月 3 日、本調査の実施が必要と判断し、委員長 桂勲をはじめ委員 7 名全員が外部専門家からなる「研究論文に関する調査委員会」(以下「調査委員会」という)を設置した。

2. 調査の内容

2-1. 調査の目的

以下の3報において、規程第2条第2項に規定する「研究不正」が含まれるかどうか、もし研究不正が含まれるなら、その責任を負うべき者は誰であるかを調査した。

Obokata et al., Nature 505: 641-647 (2014) (以下「Article」という)

Obokata et al., Nature 505: 676-680 (2014) (以下「Letter」という)

Obokata et al., Protocol Exchange (2014) doi:10.1038/protex.2014.008

(以下「Protocol Exchange」という)

2-2. 調査の期間と方法等

2-2-1. 期間と方法

調査委員会は2014年9月22日の第1回委員会に始まり、同年12月23日までの間に15回の委員会を開催して調査を行った。

調査の方法としては、まず、予備調査において確認された疑義について、疑義の根拠となるデータ、資料をもとに調査方法を検討した。次に、論文に掲載された実験のオリジナルデータ、論文作成過程を示す電子ファイル、関係者の実験ノートおよびプログレスレポート、および関係者から提出された資料や電子メール等を収集・精査した。調査対象者を含む関係者に対しては、質問状送付や聞き取りによる調査を行った。また、調査の過程で科学的検証が必要とされた事項については、理研に更なる解析を依頼した。これらの調査をもとに審議を行い、報告書を作成した。

2-2-2. 調査対象者

小保方 晴子

CDB ゲノム・リプログラミング研究チーム 客員研究員 (2011年4月6日～2013年2月28日)

CDB 細胞リプログラミング研究ユニット 研究ユニットリーダー (2013年3月1日～2014年11月20日)

研究不正再発防止改革推進本部 検証実験チーム 研究員 (2014年11月21日～同年12月21日)

若山 照彦

CDB ゲノム・リプログラミング研究チーム チームリーダー (2001年4月1日～2012年3月31日)

CDB ゲノム・リプログラミング研究チーム チームリーダー (非常勤) (2012年4月1日～2013年3月31日)

CDB 幹細胞研究支援・開発室 ヒト幹細胞研究支援ユニット 客員主管研究員 (2013年4月1日～2014年11月20日)

CDB 器官発生研究チーム 客員主管研究員 (2014年11月21日～現在)

国立大学法人山梨大学生命環境学部 教授 (2012年4月1日～現在)

丹羽 仁史

CDB 多能性幹細胞研究チーム チームリーダー (2001年2月9日~2009年9月30日)

CDB 多能性幹細胞研究プロジェクト プロジェクトリーダー (2009年10月1日~2014年11月20日)

CDB 多能性幹細胞研究チーム チームリーダー (2014年11月21日~現在)

2-3. 調査結果および評価

2-3-1. 科学的検証等の結果から生じた新たな疑義の調査

2-3-1-1. STAP 関連の細胞株、キメラマウス、テラトーマに関する調査結果および評価

(a) 調査に使用した細胞株 (以下の (b) ~ (d) などを使用した)

理研によりゲノム解析が行われた STAP 関連細胞株の一覧を下の表に示す。

表 : STAP 関連細胞株一覧

幹細胞株名	幹細胞タイプ	GFP タイプ (NGS 確認)	性別	遺伝的背景 ^{*1}	特徴的な欠失等	樹立日 ^{*2}
FLS1~8	STAP 幹細胞	Acr/CAG (ヘテロ) ^{*3}	♂	129X1 SLC [♀] / B6N SLC [♂]	Chr3/8	2012 1/31~2/2
CTS-1, 11~13	FI 幹細胞	Acr/CAG (ヘテロ) ^{*3}	♂	129X1 SLC [♀] / B6N SLC [♂]	Chr3/8	2012 5/25, 7/9
GLS-1~13	STAP 幹細胞	Oct4	♀	B6	X 染色体+ X 染色体断片	2012 1/31
AC129- 1, 2	STAP 幹細胞	CAG (ホモ)	♂	129X1 SLC [♀] / B6N SLC [♂] ^{*4}	Chr1/4/10/19	2012 8/13
FLS- T1, T2	STAP 幹細胞	CAG (ホモ)	♂	129X1 SLC [♀] / B6N SLC [♂]	Chr1/4/10/19	2013 2/22
GOF-ES	核移植 ES 細胞	Oct4	♀	B6	X 染色体+ X 染色体断片	2011 5/26~10/31
129B6 F1ES1 ^{*5}	受精卵 ES 細胞	CAG (ホモ)	♂	129X1 SLC [♀] / B6N SLC [♂]	Chr1/4/10/19	2012 4/19
129/GFP ES	由来不明	Acr/CAG (ヘテロ)	♂	129X1 SLC [♀] / B6N SLC [♂]	Chr3/8	不明
FES1 ^{*6}	受精卵 ES 細胞	Acr/CAG (ヘテロ)	♂	129X1 SLC [♀] / B6N SLC [♂]	Chr3/8	2005 12/7
FES2 ^{*6}	受精卵 ES 細胞	Acr/CAG (ヘテロ)	♂	129X1 SLC [♀] / B6N SLC [♂]	—	2005 12/7
ntESG1 ^{*6}	核移植 ES 細胞	Acr/CAG (ヘテロ)	♂	B6N SLC [♀] / 129 ⁺ Ter CLEA [♂]	—	2007 8/3
ntESG2 ^{*6}	核移植 ES 細胞	Acr/CAG (ヘテロ)	♂	B6N SLC [♀] / 129 ⁺ Ter CLEA [♂]	—	2005 1/20

- *1 親マウス系統と SNPs の比較解析により判定
- *2 細胞株培養開始日。ただし FES1 FES2 ntESG1 ntESG2 は凍結日
- *3 作製者は「CAG-GFP (ホモ)」と記載
- *4 作製者は「129 CAG-GFP (ホモ)」と記載
- *5 129B6 F1ES1~6 が STAP 幹細胞に対する標準 ES 細胞として作製されたが、本調査に最も関わりが深いのは 129B6 F1ES1 である。
- *6 正式名称は、FES1 : 129B6GFP1 FES♂、FES2 : 129B6GFP2 FES♂、ntESG1 : 129B6F1G1、ntESG2 : 129B6F1G2

この中で上段の 8 種類の細胞は、予備調査時に CDB 細胞リプログラミング研究ユニット（以下「小保方研」という）、または山梨大学生命環境学部若山研究室（以下「山梨大学若山研」という）に保存されていた STAP 幹細胞、FI 幹細胞、および関連する ES 細胞である。また、STAP 幹細胞 FLS が、Acrosin プロモーター下に GFP を発現する Acr-GFP と、CAG プロモーター下に GFP を発現する CAG-GFP の共挿入を含むことが判明した後に、過去に CDB ゲノム・リプログラミング研究チーム（以下「CDB 若山研」という）で作製された Acr-GFP/CAG-GFP 共挿入 ES 細胞を取り寄せて解析したのが、下段の 4 種類の細胞である。ゲノム解析は、この他に STAP 細胞等の作製に用いられたマウス系統についても行われた。

(b) STAP 幹細胞 FLS および FI 幹細胞 CTS は、ES 細胞 FES1 由来である

(調査結果)

STAP 幹細胞 FLS は、Article Fig. 5c の増殖曲線の測定（小保方氏の聞き取り調査による）、同 Fig. 5j-l のキメラマウス（以下「キメラ」という）作製、Article Extended Data Fig. 8d のメチル化解析、同 Fig. 8i, j のキメラ作製に用いられた。また、FI 幹細胞 CTS は、Letter Fig. 2f, g および Letter Extended Data Fig. 2a, b のキメラ作製に用いられた。理研による遺伝子解析で、STAP 幹細胞 FLS と FI 幹細胞 CTS に Acr-GFP/CAG-GFP の挿入が認められたので、これらの幹細胞、以前に CDB 若山研で作製された Acr-GFP/CAG-GFP を持つ ES 細胞 FES1、FES2、ntESG1、ntESG2、および関連するマウス系統のゲノム DNA 解析を行ったところ、上記の結論が得られた。その根拠は、以下の 4 つにまとめることができる。

- 1) Acr-GFP/CAG-GFP 共挿入の位置、コピー数、周囲の塩基配列
 - 2) SNPs データの解析結果
 - 3) 次世代シーケンサー (NGS) による解析結果
 - 4) 第 3 染色体と第 8 染色体の欠失変異
- 以下、順を追って説明をする。

- 1) Acr-GFP/CAG-GFP 共挿入の位置、コピー数、周囲の塩基配列

表：STAP 幹細胞株一覧に挙げた 12 種類の幹細胞から STAP 幹細胞 FLS-T を除く 11 種類の幹細胞株、それらの幹細胞が作製された 129 系統、および C57BL/6 系統の NGS による全ゲノム解析を行なった。その結果、Acr-GFP/CAG-GFP の共挿入は、STAP 幹細胞 FLS3、FI 幹細胞 CTS1、そして ES 細胞 FES1 並びに FES2、ntES1 並びに ntES2、および 129/GFP ES の 7 株の第 3 染色体の同一部位に共通に存在することが判明した。また、Acr-GFP が

第3染色体の片方にのみ挿入されていること（FISHにより確認）、Acr-プロモーターのコピー数がどれも約20コピーであること、GFP挿入部位を挟んで第3染色体の約20kbの重複があることと、GFP挿入部位に隣接して第4染色体20kb断片の逆向きの挿入があることも共通していることが判明した。これらの特徴は、2003年にCDB若山研が大阪大学岡部研より導入したAcr-GFP/CAG-GFPマウスの特徴と完全に一致する。

2) SNPsデータの解析結果

今回調査の対象とした表：STAP関連細胞株一覧に挙げる12種類の幹細胞の遺伝的背景を明らかにするために、理研によりTaqMan PCR法を用いたSNP解析が行われた。これまでに、理研による遺伝子解析によって、Acr-GFPとCAG-GFPとが共挿入された株を重点的に検定すべきとの結論が得られた。このことを踏まえ、前出の12種類の幹細胞株、およびそれらの幹細胞株が作製された129系統、C57BL/6系統、およびそれぞれの亜系統（計14系統）を調査した。

まず、129系統、C57BL/6系統を区別しうるSNPsを比較した結果、以下のことが判明した。

- (1) STAP幹細胞FLS3、FI幹細胞CTS1、およびES細胞FES1ならびにFES2における性染色体の構成は、母親由来のX染色体は129、父親由来のY染色体はC57BL/6であることが判明した。従って、STAP幹細胞FLS3、FI幹細胞CTS1が129 x C57BL/6であるという、論文の記載と一致していた。また、129/GFP ESもこれら三者と同一の性染色体SNPsを持っていた。他方、同じAcr-GFP/CAG-GFPの挿入を持つES細胞ntESG1、およびntESG2のX染色体はC57BL/6であることが判明したことから、調査対象のSTAP幹細胞FLS3、FI幹細胞CTS1と性染色体の構成が異なるため、これらは比較解析の対照から除外された。
- (2) 常染色体のSNPsも同様にして調査した。その結果、STAP幹細胞FLS3、FI幹細胞CTS1、およびES細胞FES1、FES2、ならびに小保方研ストックES細胞129/GFP ESは、ほぼ129 x 1/SvJmsSlcxC57BL/6NCrSlcの遺伝的背景を持つことが判明した。ただし、本来は全てのSNPsで129とC57BL/6のヘテロ接合体になるべきと考えられたが、実際は、FES2を除く4株では、調査した99か所中4か所において129由来のホモ接合体になっていた。このことは、これらの幹細胞を作製したマウス系統の遺伝的背景に不均一性があったため生じた可能性と、これら4か所において突然変異が生じた場合とがあることを示していた。実際、若山研で飼育されていたAcr-GFP/CAG-GFPマウス（遺伝的背景はC57BL/6）には、その遺伝的背景に不均一性が見られた（3）NGSによる解析結果を参照）。
- (3) 以上のことから、STAP幹細胞FLS3、FI幹細胞CTS1、ES細胞FES1、および小保方研で見つかった129/GFP ESの、常染色体に存在する129ホモのSNPsが、突然変異、あるいは遺伝的背景の不均一性によるものとしても、もしこれらの幹細胞がそれぞれ独立に作製されたものであるなら、これらの4か所に共通のSNPsが観察される可能性は低く、これら4種類の幹細胞が共通の細胞に由来することを強く示唆する。

3) 次世代シーケンサー (NGS) による解析結果

表: STAP 関連細胞株一覧に挙げる 12 種類の幹細胞のうち、FLS-T を除く 11 種類、それらの幹細胞が作製された 129 系統、および C57BL/6 系統に関して、全ゲノム SNPs 解析を行なった。その結果、STAP 幹細胞 FLS3、FI 幹細胞 CTS1 および「129/GFP ES」と呼ばれる小保方研のフリーザーから発見された ES 細胞は、2005 年に若山研で樹立された受精卵由来の ES 細胞 FES1 および FES2 と遺伝的背景の類似性が高いことが明らかになった。

これら 5 種類の細胞の SNPs 分布を詳細に観察すると、特に疑義の生じている STAP 幹細胞 FLS3、FI 幹細胞 CTS1、ES 細胞 129/GFP ES および FES1 の 4 細胞株の遺伝的背景は酷似していることが判明した。他方、ES 細胞 FES1 と同時に樹立された ES 細胞 FES2 は、ES 細胞 FES1 とかなり類似した SNPs 分布を有するものの、第 6 染色体、第 11 染色体および第 12 染色体の一部に ES 細胞 FES1 と異なる領域が存在していた。これら 3 領域では、ES 細胞 FES2 で B6/B6 の SNPs が ES 細胞 FES1 ではおしなべて B6/129 となっており、また、ES 細胞 FES2 で B6/129 の SNPs は ES 細胞 FES1 で全て 129/129 であるという極めて特徴的な SNPs パターンの相違を示した。このことから、ES 細胞 FES1 と ES 細胞 FES2 の樹立当時、交配に用いられた親マウスの遺伝的背景は均一ではなく、第 6、第 11、第 12 染色体のこれらの領域が B6 の SNPs のものと 129 の SNPs を持つものが併存していたと推定される。そして、ES 細胞 FES1 と FES2 は、樹立時にそれぞれ異なる SNPs を持つ染色体を親マウスから受け継いだ可能性が高い。ES 細胞 FES1 と FES2 で異なる SNPs を示すこれら 3 つの染色体領域に関して、2012 年に樹立されたとされる STAP 幹細胞 FLS3、FI 幹細胞 CTS1 および小保方研ストックの由来不明 ES 細胞 129/GFP ES は、ES 細胞 FES1 とほぼ同一の SNPs パターンを示し、ES 細胞 FES2 とは異なっていた。

上記の 129 由来のホモクラスターは、染色体上の狭い領域に突然変異によって生じた SNPs が点在するものであり、今回 4 種の幹細胞には、第 6、第 11、第 12 染色体上に 129 に特徴的なクラスターが、また第 17、第 18、第 19 染色体等に C57BL/6 のクラスターが認められることから、TaqMan PCR によって観察された 129 ホモの SNPs はこれら幹細胞の作製に使用したマウスに存在した遺伝的背景の不均一性によるものと結論づけた。

ES 細胞 FES1 と FES2 でのみ異なる SNPs に関して、両者の遺伝的背景の相違によると判断された上記第 6、第 11、第 12 染色体の SNPs クラスターを除外し、残った 1,290 SNPs を用いて比較を行うと、STAP 幹細胞 FLS3、FI 幹細胞 CTS1、および、ES 細胞 129/GFP ES は同一細胞株と良い程の高い類似性を示すことが判明した。従って、STAP 幹細胞 FLS3、FI 幹細胞 CTS1、および 129/GFP ES は同一の細胞由来であり、ES 細胞 FES1 と同一、あるいはそれから派生した株の可能性が高い、と結論づけた。

4) 第 3 染色体と第 8 染色体の欠失変異

STAP 関連 11 細胞株の全ゲノム解析から、第 3 染色体の 5kb の欠失と第 8 染色体の 17kb の欠失(第 8 染色体は 129 系統由来; 第 3 染色体は B6 系統由来)が上記 STAP 幹細胞 FLS3、FI 幹細胞 CTS1、および、ES 細胞 FES1 並びに 129/GFP ES だけに共通に存在することが判明した。この 2 箇所の欠失は、STAP 幹細胞 FLS および FI 幹細胞 CTS の全ての株にも共通に存在することが PCR 産物の塩基配列決定により確認された。一方、この両欠失は、市販の 129 の垂系である 129 x 1/SVJmsSlc(SLC) と 129^{Ter}/SvJcl (CLEA) のいずれにも

存在しない。また、この第 3 染色体の 5kb の欠失も、市販の B6 の亜系である C57BL/6JmsSlc (SLC)、C57BL/6NcrSlc (SLC)、C57BL/6J (Charles River)、C57BL/6NcrI (Charles River)、C57BL/6Jcl (GLEA)、C57BL/6Ncl (GLEA) のいずれにも存在しない。さらに、2010 年に若山研で受精卵凍結された Acr-GFP/CAG-GFP マウスにも存在しなかった。

もし、これらの細胞が論文に示されていた (129 x C57BL/6) F1 から作製された株であるなら、これら 2 個所の欠失の両方、または片方が市販の 129 系統、C57BL/6 系統のいずれかに存在していなければならず、STAP 研究の行なわれた 2 年強という期間でこれら 2 個所の欠失が生ずることは考えにくい。従って、この結果は、これら 4 種類の細胞が、論文に示されていた (129 x C57BL/6) F1 マウスから直接作製された株ではないことを明確に示している。

(c) STAP 幹細胞 GLS は、ES 細胞 GOF-ES に由来する

(調査結果)

Article の Fig. 5 および Extended Data Fig. 8 に、STAP 細胞を ACTH+LIF の条件で培養すると、増殖傾向を示す ES 細胞様の GFP 発現細胞 (STAP 幹細胞) となったことが報告されている。

STAP 幹細胞 GLS1 と GLS11~13 は、若山氏の実験ノートによると、小保方氏が GOF マウス細胞から作製した STAP 細胞を用いて、若山氏が 2012 年 1 月 31 日に樹立したことが判明した。

一方、ES 細胞 GOF-ES は、CDB の別のグループから供与された、Oct4 プロモーター下に GFP を発現する GOF マウスから、若山氏が指示した別の研究に使用する目的で、2011 年 5 月 26 日から 10 月 31 日の間に CDB 若山研メンバーによって作製された。この期間に、小保方氏から、当該メンバーに対し、STAP 細胞の研究でコントロールとして使用したい、との依頼があり、培養皿ごと ES 細胞 GOF-ES が小保方氏に手渡された。

以上の背景から、STAP 幹細胞 GLS が ES 細胞 GOF-ES 細胞の混入によるという疑義が生じたため、ゲノム比較解析を実施した。

その結果、STAP 幹細胞 GLS の中から選んだ GLS1 と ES 細胞 GOF-ES 細胞において

- 1) 全ゲノム上の SNPs 分布 (C57BL/6 マウス背景) が同一
- 2) 挿入遺伝子の種類、コピー数、挿入領域の配列が同一
- 3) 由来するマウスの性別 (メス) が同一
- 4) X 染色体上の構造異常 (大きな欠失+末端重複逆位接続) が同一

であることが確認され、STAP 幹細胞 GLS1 と ES 細胞 GOF-ES 細胞がほぼ確実に同一であることが判明した。また、

- 5) マウス個体で X 染色体上に上記のように大きな構造異常が生じた場合、その染色体は世代を超えて安定に維持されないこと
- 6) ES 細胞 GOF-ES の元となった親の GOF マウスには、X 染色体構造異常が認められなかったこと
- 7) GOF マウスの SNPs 分布が、STAP 幹細胞 GLS1 および ES 細胞 GOF-ES の SNPs 分布と異なっていたこと

8) STAP 幹細胞 GLS1 以外の全ての独立な GLS 株でも、STAP 幹細胞 GLS1 と同じ X 染色体上の構造異常が見つかったことが判明した。

以上のことから、STAP 幹細胞 GLS1 および他の GLS が GOF マウス細胞由来の STAP 細胞から作製されたことは否定的となった。また、X 染色体構造異常は GOF マウスから ES 細胞が作製された過程に生じ、これが STAP 幹細胞 GLS に反映された可能性が示唆された。

さらに、CDB 若山研メンバーが ES 細胞 GOF-ES を作製したのが 2011 年 5 月 26 日～同年 10 月 31 日であり、小保方氏が提供した STAP 細胞から若山氏が STAP 幹細胞 GLS を作製したのが 2012 年 1 月 31 日であったことから、ES 細胞 GOF-ES が STAP 幹細胞 GLS の作製に寄与したと考えることに時間的な矛盾はなかった。

なお、STAP 幹細胞 GLS には第 8 染色体のトリソミーがあったが、GOF マウスおよび ES 細胞 GOF-ES にはなかった。このトリソミーはマウスでは致死だが、ES 細胞でときどき生じるもので、STAP 幹細胞 GLS 作製 (GOF-ES 混入) 時または作製 (混入) 後に生じたと考えられた。

以上より、本調査委員会では、「STAP 幹細胞 GLS と ES 細胞 GOF-ES は同一由来の細胞である」と認定した。また「GOF マウスから ES 細胞 GOF-ES が樹立された過程で X 染色体上の構造異常が生じ、GOF マウスから STAP 細胞を経て STAP 幹細胞 GLS が作製された過程でこの ES 細胞 GOF-ES の混入が生じ、それを用いた実験結果が Article の Fig. 5 および Extended Data Fig. 8 に示された」と結論づけた。

(d) STAP 幹細胞 AC129 は、129B6F1 マウスから作製された受精卵 ES 細胞に由来する

(調査結果)

STAP 幹細胞株樹立に遺伝的背景が及ぼす影響を調べる実験が、若山氏により 2012 年夏から秋にかけて行われ、2012 年 9 月 4 日に STAP 幹細胞 AC129-1 および AC129-2 が樹立された。若山氏が交配した 129/Sv-CAG-GFP マウス (CAG-GFP 遺伝子が第 18 染色体に挿入されたホモ接合体) 由来の脾臓 CD45 陽性細胞を材料とし、小保方氏が STAP 細胞を作製し、それを用いて若山氏が STAP 幹細胞として AC129 を樹立した。この細胞ストックは CDB 若山研が山梨大へ移転する際に山梨大へ運ばれ、また一部は小保方研へ分与され、それぞれフリーザーに保管されていた。このうち、小保方研フリーザーに保管されていた STAP 幹細胞 AC129-1 について、SNPs マーカーの TaqMan PCR 法による解析を行い、さらに NGS により全ゲノム DNA 配列を解析した。同じく STAP 幹細胞 FLS の対照として CAG-GFP マウスから作製された受精卵 ES 細胞 (129B6 F1ES) の解析も同時に行った。得られたデータを他の細胞等の解析結果や公開データと照合した結果、以下のことが判明した。

1) SNP 解析の結果

STAP 幹細胞 AC129-1 は 129CAG-GFP と B6CAG-GFP を交配した F1 マウス (オス) に由来することが判明した。SNPs197 か所についてタイピングを実施した結果、STAP 幹細胞 AC129-1 はほぼ完全に 129B6F1 の SNPs 分布を示した。さらに、SNPs の同一性は全ゲノ

ム DNA 配列解析でも確認された。用いたマウスから想定される 129/Sv ホモ接合体ではないことから、実験過程に何らかの間違があったと考えられた。

2) NGS 解析の結果

AC129-1 が有する GFP 遺伝子は第 18 染色体（塩基位置 46, 261, 277）に 1 コピー挿入されていた。これは CDB 若山研で樹立された CAG-GFP マウス（129 系統および B6 系統）と同じ挿入部位であった。また相同染色体の両方に挿入を有するホモ接合体であった。

3) STAP 幹細胞 AC129-1 の第 6 染色体中央部分に B6 ホモ領域が存在した原因

以上の解析は、同細胞が 129 CAG-GFP と B6 CAG-GFP を交配した F1 マウスに由来することを示したが、第 6 染色体中央部分に B6 ホモ領域が存在したことから、この原因についてさらに調べた。129CAG-GFP マウスは 129X1/Sv との戻し交配より B6CAG-GFP より遺伝的背景を 129 に置き換えたものであるが、現在、山梨大学若山研で維持されている 129 CAG-GFP マウスの全ゲノムの SNP 解析から、129 CAG-GFP マウスの遺伝的背景が十分に均一化されていないことが判明した。特に第 6 染色体中央部分に約 30 Mb に及ぶ 129 と B6 のヘテロな領域が存在する。この遺伝的背景の不均一性により、AC129-1 の有する第 6 染色体 B6 ホモ領域が生じたと考えられる。

4) 他の細胞株における遺伝的不均一性

この遺伝的不均一性は、129 CAG-GFP マウスに由来する他の細胞株にも反映していた。若山氏により 129B6F1CAG-GFP マウスの独立した胚より複数の受精卵 ES 細胞株が樹立されているが（129B6 F1ES1~6、2012 年 5 月作製）、いずれも第 6 染色体中程に B6 ホモ領域を有していた。しかし、この B6 ホモ領域と 129/B6 ヘテロ領域の境界は 129B6 F1ES1~6 の間で異なっていた。このばらつきは、129 CAG-GFP マウスの配偶子が形成される際、減数分裂の過程で、B6 と 129 の染色体の組換えによって生じた可能性が高いと考えられる。ただし、細胞株樹立時の体細胞分裂における染色体組換えがこの多様性に寄与した可能性もある。

5) STAP 幹細胞 AC129-1 の染色体における特徴的な構造変異

STAP 幹細胞 AC129-1 は染色体に特徴的な構造変異（欠失 4 か所、重複 1 か所）を有していた。欠失 1 は第 19 染色体の約 9kb、欠失 2 は第 1 染色体の約 5kb、欠失 3 は第 4 染色体の 16kb、欠失 4 は第 10 染色体の約 2kb をそれぞれ欠くものであった。重複 1 は第 1 染色体の約 2.5kb が繰り返すものであった。この中で欠失 2 は現在、山梨大学若山研で飼育されている B6 CAG-GFP マウスに存在するが、129 CAG-GFP マウスには存在しないことを PCR 法により確認した。他の構造変異は、現在の B6 CAG-GFP マウスおよび 129 CAG-GFP マウスには存在しない。同じ親マウス系統の交配から樹立された互いに独立な 129B6 F1ES1~6 は、欠失 1 と 2 を全て共有していたが、性別はまちまちであり、他の 3 種類の構造変異をそれぞれ固有の組み合わせで有していた。したがって、これら 3 種類の構造変異は、細胞株樹立当時の親マウスのどちらかあるいは両親にヘテロで存在した可能性が高いと考えられる。

129B6 F1ES1 は STAP 幹細胞 AC129-1 と同じくオスであり、同一の構造変異を有し、さらに 4) に述べたように第 6 染色体 B6 ホモ領域の境界も両細胞で一致していた。一方、

NGS 解析を行った 129B6 F1ES6 は欠失 1~3 は有するものの、欠失 4 および重複 1 は有しない。また、第 6 染色体 B6 ホモ領域境界も AC129-1 とは異なっていた。

また、STAP 幹細胞 AC129-2、STAP 幹細胞 FLS-T1、FLS-T2（小保方氏指導のもと若山氏が STAP 細胞を得、そこから樹立した STAP 幹細胞）も、129B6 F1ES1 が有するゲノム構造の特徴を、性別も含めて共有していた。

以上の調査結果を総合すると、異なる時期に作製された 3 種の細胞株、129B6 F1ES1、STAP 幹細胞 AC129 および STAP 幹細胞 FLS-T (AC129-1、AC129-2、並びに、FLS-T1、FLS-T2) はそれぞれ独立の細胞株なので、5 個の独立した細胞株、129B6 F1ES1、STAP 幹細胞 AC129-1、AC129-2、並びに、STAP 幹細胞 FLS-T1、FLS-T2) が偶然、性別および、4 種のゲノムの特徴（欠失 3、4、重複 1、第 6 染色体 B6 ホモ領域）を共有する確率は極めて低い。したがって、STAP 幹細胞 AC129-1、AC129-2、並びに、STAP 幹細胞 FLS-T1、FLS-T2 は、129B6 F1ES1 に由来すると結論づけた。

STAP 幹細胞 AC129 とされる細胞は 2012 年 8 月 13 日に作製されていることから、この細胞はこれ以降に実施された実験に用いられたと判断した。公開データ再解析の結果によれば、論文に記載された実験の中では Letter Fig. 4 に使われた可能性が高く、また Letter 論文 Fig. 2i にも使われた可能性がある。しかし実験記録の不備から使用実験を特定するには至らなかった。なお、Article のメソッドに、129/Sv carrying Rosa26-gfp からキメラ寄与能を有する STAP 幹細胞が樹立された、との記述があるが、129/Sv carrying Rosa26-gfp マウスは理研 CDB に導入された記録や飼育記録はないことから、これは誤記と考えられ、若山氏の説明によればここで言及された STAP 幹細胞は AC129 であった可能性が高い。

(e) STAP 細胞や STAP 幹細胞由来のキメラは ES 細胞由来である可能性が高い

(調査結果)

1) Article Fig. 4 と Extended Data Fig. 7 に 129/Sv×B6 (CAG-GFP) F1 マウスから作られた STAP 細胞由来の 2N キメラができたこと、さらに germline transmission により、このキメラの子ができたことが報告されている。

小保方研のフリーザーに「カルスキメラ子 1」～「カルスキメラ子 9」と書かれた 9 本の DNA 試料があり、2011～2012 年の CDB 若山研では STAP 細胞を「カルス」と呼んでいたことから、これらはこのキメラの子の DNA と考えられた。実際に、小保方氏への聞き取り調査により、これらの試料は Article Extended Data Fig. 7 に出てくるキメラの子から小保方氏が抽出した DNA であることを確認した。若山氏の実験ノートでは、このキメラの作製は 2012 年 1 月終りから 2 月はじめにかけて行なわれていた。

これら 9 本の試料を理研で PCR により解析したところ、ES 細胞 FES1 に存在する Acr-GFP の第 3 染色体への挿入を持つ試料が 3 本、ES 細胞 FES1 固有の第 3 染色体欠失（～5kb）を持つ試料が 4 本、第 8 染色体欠失（～17kb）を持つ試料が 2 本あることが判明した。ここで、ES 細胞 FES1 固有というのは、STAP 細胞を作ったとされる親マウス、ES 細胞 FES1 を作製したマウス、ES 細胞 FES1 と独立に作製した ES 細胞 FES2 にはないという意味である。したがって、この DNA は、ES 細胞 FES1 に由来する可能性が非常に

高い。

2) Article Fig. 5k に STAP 幹細胞由来の 4N キメラが掲載されている小保方研のフリーザーに「4N-1」～「4N-8」と書かれた、4N キメラから抽出されたと思われる 8 本の DNA 試料があった。聞き取り調査の結果、これらの DNA 試料は 2012 年 4 月 6 日に CDB 若山研メンバーが 4N キメラから抽出したものであることが判明した。若山氏によると、この 4N キメラは、STAP 幹細胞 FLS から同年 2 月 15～22 日に作製したものであるということであった。また、小保方氏もこの DNA 試料は STAP 幹細胞 FLS の 4N キメラのものとの見解だった。さらに、若山氏の実験ノートや撮影記録 (2012 年 3 月 11 日) から Article Fig. 5k のマウスであることが確認された。

この試料を理研で PCR により解析したところ、全ての試料で、親マウスの持つ第 18 染色体挿入の CAG-GFP は存在せず、ES 細胞 FES1 に存在する第 3 染色体挿入の Acr-GFP が検出された。したがって、これらの試料も ES 細胞 FES1 に由来する可能性が高い。

(f) STAP 細胞から作製されたテラトーマは、ES 細胞 FES1 に由来する可能性が高い

(調査結果)

Article Fig. 2e と Extended Data Fig. 4a-c に登場する STAP 細胞由来のテラトーマは、いずれも Oct4-GFP⁺細胞の 7 日目細胞塊から由来したとされている。しかし、以下 1)～3) の検証結果に示す通り、このテラトーマは、

- (1) Acr-GFP 遺伝子を含むが Oct4-GFP 遺伝子は含まないこと
 - (2) ES 細胞 FES1 に特異的な 2 個の欠失が定量 PCR の解析で検出されたこと
 - (3) 組織切片の FISH 並びに染色体ペインティングで大部分の細胞に X 染色体と Y 染色体各 1 本が検出されたこと (ES 細胞 FES1 が XY (オス) であるという事実と合致)
- が判明した。よって、これらの図に登場する STAP 細胞由来のテラトーマは、ES 細胞 FES1 に由来する可能性が高い。

1) 残存試料の同定

Article Fig. 2e と Extended Data Fig. 4a-c に提示された STAP テラトーマの全ての画像は、CDB に残されていたテラトーマのスライドグラス標本「6weeks+PGA 12/27 移植 Haruko」から得られたものである。このスライドグラスの試料は、小保方研に保存されていたパラフィンブロックの形態の比較から、「CD45 カルス-テラトーマ」と記されたパラフィンブロックより採取されたことが判明した。

2) 定量 PCR による検証

パラフィンブロック「CD45 カルス-テラトーマ」より夾雑物の混入を防ぐために不要部分を整形した後、5 μ m の切片 10 枚 (カルス-テラトーマ 1) または 20 枚 (カルス-テラトーマ 2) を用いて、DNA の抽出を行った。抽出後の DNA 2.2 μ g (カルステラトーマ 1) : および 6.1 μ g (カルステラトーマ 2) を用い、定量 PCR により、トランスジーンのコピー数、および ES 細胞 FES1 に固有の第 3 染色体と第 8 染色体上の欠失 (表: STAP 関連細胞株一覧、および 3-2-1-1. の (b) を参照) を解析した。

ホルマリン固定による DNA の断片化を考慮し、検出する PCR 断片の長さを 100bp 以下

に抑えて、定量 PCR での確認を行った。なお、実験操作過程で、試料以外からの DNA の混入がないことを確認するため、「CD45 カルス-テラトーマ 2」の実験ではすべての試薬と器具を更新し、別の場所で行った。

カルス-テラトーマ 1 とカルス-テラトーマ 2 を実験群とし、陽性対照群として 3 種類の STAP 幹細胞 FLS4 (ES 細胞 FES1 由来。Acr-GFP : ~24 コピー/ゲノム)、129B6F1 ES5 (CAG-GFP : 2 コピー/ゲノム)、STAP 幹細胞 GLS13 (Oct4-GFP : ~28 コピー/ゲノム) を、陰性対照として C57BL/6NS1c (GFP なし) の尾由来組織を選択した。内部標準遺伝子として、常染色体上に存在する IL2 遺伝子を選び、この検出量を 2 コピーとして、それぞれの試料の GFP 遺伝子の増幅率を 2 コピーで乗ずる (増幅率を 2 倍にする) ことにより、コピー数を算定した (プライマーによる PCR 効率の違いを補正していない半定量的な測定)。

その結果、GFP に対する 2 種類のプライマーセットによる実験で良好な再現性が確保できた。実験群の上記 2 種類のテラトーマは、20 コピーから 30 コピーの GFP 遺伝子を保有することが判明した。また、陽性対照はそれぞれの GFP のコピー数を反映していた。また、陰性対照の C57BL/6NS1c マウス組織からは GFP 遺伝子は検出できなかった。

次いで、Oct4-GFP と Acr-GFP の区別を行うために、Oct4-GFP と Acr-GFP のそれぞれの接続部分にプライマーを設定し、上記と同様に定量 PCR での定量を行った。

その結果、Acr-GFP を検出するプライマーでは、実験群の「CD45 カルス-テラトーマ」と陽性対照群 STAP 幹細胞 FLS4 から、それぞれ約 30 コピー、20 コピーのコピー数で検出された (プライマーによる PCR 効率の違いは未補正)。

さらに、ES 細胞 FES1 に固有の第 3 染色体および第 8 染色体上の欠失の有無を定量 PCR により検出する実験を行った結果、どちらの欠失も、「CD45 カルス-テラトーマ 1、2」と STAP 幹細胞 FLS4 (上記 (b) の結果によると ES 細胞 FES1 由来) のみで確認できた。したがって、パラフィンブロック「CD45 カルス-テラトーマ」の試料は、ES 細胞 FES1 の混入したものである可能性が非常に高い。

3) 組織切片染色体 FISH での検証

パラフィンブロック「CD45 カルス-テラトーマ」から作製した組織切片について、それぞれ X 染色体と Y 染色体に特異的なプローブを用いて FISH を行った。その結果、Acr-GFP/CAG-GFP 陽性細胞が存在するとみられる領域の大部分の細胞がオス型の染色体 (XY) を有しており、ES 細胞 FES1 由来であるという上記の結論と矛盾しない。

4) テラトーマとマウス組織の区別

「CD45 カルス-テラトーマ」の試料が GFP を恒常的に発現する Acr-GFP/CAG-GFP 細胞を含むことから、移植細胞に由来する組織とホストマウス由来の組織を GFP の抗体染色で区別することを試みた。その結果、テラトーマ組織内に多くの GFP 陽性の細胞が確認できた。他方、移植細胞に由来すると報告された小腸上皮 (Article Fig. 2e 右) と膵臓 (Article Extended Data Fig. 4c) 様の組織は GFP 陰性であり、テラトーマに由来するものではなくホストマウスの組織であることが判明した。

本解析の結論をまとめると、以下の通りになる。

「CD45 カルス-テラトーマ」の試料は、Acr-GFP/CAG-GFP を持つこと、および ES 細胞 FES1

に固有の第3染色体および第8染色体の欠失が認められたことから、STAP細胞由来ではなくES細胞FES1に由来すると思われる。このことは、FISHによる解析で、大部分の細胞にY染色体が検出されたこととも合致する。分化組織の形態をとるテラトーマ由来の組織と報告されたものは宿主由来の組織であった。したがって、STAP細胞の多能性を示すテラトーマ実験の証明力は否定された。

(g) 2-3-1-1. に関する評価

1) STAP幹細胞等の作製時にES細胞が混入したか。ES細胞の混入を行った者を特定できるか。研究不正は認められるか

(1) ES細胞混入の根拠

STAP論文に登場し理研に試料として残されていた3種類のSTAP幹細胞(FLS, GLS, AC129)は、今回の調査でいずれもES細胞(それぞれFES1, GOF-ES, 129B6 F1ES1)に由来することが確実にされた。また、FI幹細胞CTSもES細胞FES1に由来することが確実にされた。ここで使われた実証の論理は、以下の通りである。

各培養細胞がどのマウス系統由来かは、GFP融合遺伝子の挿入位置とマウス系統に特異的なSNPsにより判別することができる。さらに、NGSを用いた全ゲノム解析による高い判別性能から、これを検証すると共に、さらに詳細なSNPsおよび挿入欠失の解析により同一系統由来の細胞間の同一性を判別することができる。マウスから培養細胞を樹立する時にしばしば新しい変異(欠失や塩基置換)がランダムに生じたり、あるいは、親マウスにあった欠失等の変異が配偶子形成の際にランダムに分離する。したがって、これらの変異を共通に持つかどうかで、2種の培養細胞が同じ系統のマウスから別々に樹立されたか、1種の培養細胞に由来するかを判別できる。培養細胞樹立後もわずかずつ変異が生じるが、たまたま同じ部位に同じ変異が生じる確率は非常に低く、数か所に同じ変異(親マウスにはないもの)がある場合は、同一の培養細胞由来と判断できる。なお、第8染色体トリソミーは、マウス個体では致死のために存在し得ないが、培養細胞ではある頻度で生じることが知られており、別々の培養細胞に第8染色体トリソミーが独立に生じる確率は、同一の部位に変異が起きる確率よりはるかに高いと考えられる。

以上の論理を用いて、STAP幹細胞やFI幹細胞がES細胞に由来すると結論することができた。この場合、STAP幹細胞やFI幹細胞の作製時にES細胞が混入した可能性、ES細胞作製時にSTAP幹細胞やFI幹細胞が混入した可能性、の2つの可能性が考えられるが、今回の場合はいずれもES細胞の方がSTAP幹細胞やFI幹細胞より早い時期に樹立されている。よって、STAP幹細胞やFI幹細胞の作製時にES細胞が混入したと認められる。

また、STAP細胞やSTAP幹細胞から作製されたとされるキメラやテラトーマについても、残存試料を用いて上記のES細胞に固有のDNA塩基配列を検出した結果、すべて上記ES細胞のいずれかに由来することで説明できた。

(2) ES細胞の混入を行った者を特定できるか

これだけ何回もES細胞が混入したことは、培養器具の不注意な操作による混入の可

能性も考えられるが、研究者の常識としては、誰かが故意に混入した疑いを拭うことができない。そこで、本調査委員会では、誰に ES 細胞混入の機会があったかを調査した。小保方氏と若山氏の聞き取り調査から判明した各実験過程の担当者は、以下の通りである。

[STAP 細胞作製のためのマウス] STAP 細胞作製に用いたマウスは、若山氏がマウスの交配を行い、小保方氏にマウスを手渡した。ただし、Oct4-GFP を持つ STAP 細胞作製のときは、CDB 若山研メンバーが管理していた GOF マウスのケージから、小保方氏が子マウスを取り出して使用した。

[STAP 細胞作製] STAP 幹細胞、FI 幹細胞、キメラ、またはテラトーマの作製にまで到達できた STAP 細胞は、すべて小保方氏が作ったものである。CDB 若山研のメンバーで挑戦した者は多いが、小保方氏以外で成功した者はいなかった。例外として、一度だけ、小保方氏が付き添って指導したときに、若山氏が STAP 細胞作製を行い、さらに STAP 幹細胞作製まで到達したことがあった(表: STAP 関連細胞株一覧の「FLS-T1、T2」: この細胞株のデータは論文には使われていない)。

[STAP 幹細胞、FI 幹細胞、キメラの作製] 小保方氏がディッシュの蓋などに載せて持って来た STAP 細胞塊を若山氏が切り刻んでマウス胚に注入し、キメラを作製した。また、キメラ作製に使用した STAP 細胞塊の残りから、若山氏が STAP 幹細胞や FI 幹細胞を作製した。小保方氏からの聞き取り調査によると、1 回だけ小保方氏が FI 幹細胞を作製したことがあったが、解析には使わず保存もしなかったとのことである。また、小保方氏は、自身で STAP 幹細胞樹立を試みたが成功しなかったと説明している。

[テラトーマの作製] すべて小保方氏が行った。したがって、STAP 細胞からテラトーマを作製した際は、すべての過程を小保方氏が行ったことになる。

以上の実験過程を考慮すると、混入があった場合、当事者は小保方氏と若山氏 (STAP 細胞からのテラトーマ作製では小保方氏のみ) しかいないように見える。しかし、当時の CDB 若山研の状況調査から、必ずしもそうとは言いきれないことが判明した。STAP 細胞の作製には酸処理から約 7 日間、細胞をインキュベーター内に放置するが、このインキュベーターが置かれた培養室は他の部屋 (研究室、実験室、胚操作室) から隔離された状態にあり、クリーンベンチや蛍光顕微鏡を使用する人がときどき入る以外は、あまり人がいない状態にあった。また、若山氏の聞き取り調査から、当時の CDB 若山研では、多くの人が夜中にこの部屋に入ることが可能だった。つまりインキュベーターやフリーザーへの接近が可能だった人は数多くいたことになる。したがって、作製中の STAP 細胞が入ったディッシュを判別できれば、多くの人に混入の機会があったことになる。

ES 細胞混入のもう 1 つの謎は、ES 細胞 FES1 がどのようにして STAP 細胞研究時の CDB 若山研に存在したかである。ES 細胞 FES1 は 2005 年に当時の CDB 若山研メンバーによって樹立されたが、その後、研究に使わず、2010 年 3 月 (CDB 若山研で STAP 研究が始まる前) に転出した時に ES 細胞 FES1 の凍結保存試料を全部持ち出して CDB 若山研には残さなかったとされている。当時の CDB 若山研メンバーへの質問状と聞き取り調査、および関係者の実験ノートの調査でも、当該メンバー以外に ES 細胞 FES1 を使用した者は見つからなかった。

しかし、CDB 若山研が終了した後小保方研のフリーザーに残っていた「129/GFP ES」と書かれた試料が見つかった。この試料はゲノム解析により ES 細胞 FES1 とほぼ同一

であることが判明したが、この試料については、調査委員会の質問に対し、小保方氏、若山氏をはじめ、CDB 若山研メンバーは全く知らないという回答であった。したがって、ES 細胞 FES1 がどのようにして STAP 細胞等の作製時に混入したのかは、謎のまま残った。

客観的状況に照らし混入の機会があったと見られる全ての関係者を洗い出し聞き取り調査を行ったが、小保方氏を含め、いずれの関係者も故意又は過失による混入を全面的に否定しており、残存試料・実験記録・関係者間のメール送信記録・その他の客観的資料の分析検討によっても混入行為者の特定につながる証拠は得られず、ES 細胞混入の目撃者も存在せず、混入の行為者を同定するに足る証拠がないことから、委員会は、誰が混入したかは特定できないと判断した。

(3) 故意か過失か

行為における故意又は過失の認定は、当該行為がなされた客観的状況と当該行為者にかかる主観的要素を総合的に判断しなされるべきものであるが、ES 細胞混入の行為者が特定できない状況なので、混入行為が故意によるものか過失によるものかにつき決定的な判断をすることは困難であり、調査により得られた証拠に基づき認定する限り、不正と断定するに足る証拠はないと考えられる。

2-3-1-2. ChIP-seq や RNA-seq などの公開データに関する疑義

STAP 論文において用いられた NGS データ (RNA-seq、ChIP-seq input データ (公共データベースに公開))、および本研究に関連して取得され、論文には用いられなかった RNA-seq データを、本調査にてシーケンスした NGS データ (各種ゲノムおよび STAP ChIP-seq input サンプル由来 DNA) と関連づけて解析することにより、以下の問題点が明らかとなった。

1) 実際に RNA-seq、ChIP-seq に用いた細胞株/マウス系統が論文記載、公共データベース登録内容と異なっている

(調査結果)

論文や公共データベース登録内容に基づくと、これらの解析に用いている細胞株は CD45⁺細胞、TS 細胞を除いて 129xB6 ヘテロ系統マウス由来であり、挿入されている GFP のタイプは CAG もしくは Oct4 である。しかし、ChIP-seq input データの解析から、FI 幹細胞は Acr-GFP/CAG-GFP が挿入された 129xB6 ヘテロ系統、CD45⁺細胞は Oct4-GFP が挿入された B6 ホモ系統、STAP 細胞、STAP 幹細胞は CAG-GFP が挿入された 129xB6 ヘテロ系統由来であることが強く示唆された。一方 RNA-seq (Truseq) データの解析からは、FI 幹細胞は Oct4-GFP が挿入された B6 ホモ系統、CD45⁺と STAP 細胞は CAG-GFP が挿入された 129xB6 ヘテロ系統、STAP 幹細胞は Acr-GFP/CAG-GFP が挿入された 129xB6 ヘテロ系統由来であることが示唆された。

このように、RNA-seq における FI 幹細胞ではマウス系統が論文記載のものと異なっており、また ChIP-seq における FI 幹細胞、STAP 幹細胞では論文には記載のない Acr-GFP/CAG-GFP が挿入された細胞が用いられている。これらの実験は全て小保方氏によりサンプル調製がされているため、どのようにサンプルを用意したのかを中心に聞き取り調査を実施したが、その当時あった細胞を集めて用意したとの説明しか得られず、

ノート等の記載も見当たらないため詳細は不明であった。

2) FI 幹細胞の RNA-seq データは二種類の細胞種を含んだサンプルに由来する

(調査結果)

FI 幹細胞の RNA-seq データと NGS 解析によるマウスゲノムデータとの比較解析により得られた SNPs データを詳細に解析すると、大多数のアレルは B6 ゲノム配列と一致するのに対して、5-10%程度のアレル頻度を持つ SNPs 箇所が多く認められる。これは大部分の RNA-seq データが B6 ホモ系統マウス由来の細胞から得られており、別系統由来を持った細胞から取得された RNA-seq サンプルが少量混じっている可能性を示す（少量混じっていると考えられる RNA-seq データが示す SNPs 分布は TS 細胞の RNA-seq データ (CD1 系統) と酷似している)。

3) STAP 細胞由来 ChIP-seq (input) サンプルは 129B6 F1ES1 から取得された

(調査結果)

小保方氏が CDB ゲノム資源解析ユニット (以下「GRAS」という) に持参し残されていた STAP 細胞由来 ChIP-seq (input) サンプルを再度 NGS 解析した結果、STAP 細胞由来とされる ChIP-seq input データは CAG-GFP の挿入を持つ 129xB6 ヘテロ系統由来の細胞から取得されたものと判明した。さらに SNPs の解析、特異的な欠失変異の解析により (2-3-1-1 (d) 参照のこと) CAG-GFP が挿入された 129B6 F1ES1 とほぼ同一細胞由来のデータであることが明らかとなった。

4) 未登録 (論文には用いられていない) RNA-seq データの解析により、未登録 RNA-seq データで用いられていた細胞株/マウス系統は論文のものとは異なり、これらを用いると Letter Fig. 2i は再現できない

(調査結果)

TS 細胞および FI 幹細胞の RNA-seq 解析に関しては、それぞれ複数サンプルがシーケンスされ、その中の 1 サンプルずつの解析結果が論文に採用されている。それ以外の細胞に関する RNA-seq では 1 サンプルしか解析されていない。このことに関し、理研に残っていて論文には用いられていない RNA-seq データおよび複数サンプル解析を行った経緯について調査を行った。

2012 年 8 月に第 1 回目として TS 細胞と FI 幹細胞の RNA-seq 用サンプル (TS1 と FI-SC1) が小保方氏より CDB の GRAS に提供され、シーケンシングが実施された。残された RNA-seq データの解析により、第 1 回目のサンプルは、TS1 と FI-SC1 とともに 129xB6 ヘテロ系統マウス由来のものであり、TS 細胞は CAG-GFP が、FI 幹細胞は Acr-GFP/CAG-GFP が挿入された細胞から取得されていることも強く示唆された。

第 1 回目の GRAS による RNA-seq データ解析結果が想定していたものと異なっているとの理由により、小保方氏は、再度サンプルを 2013 年 1 月および 6 月に GRAS に提供し (TS 細胞 1 種類 (TS2) および FI 幹細胞 2 種類 (FI-SC2, FI-SC3))、データの再シーケンスを実施した。再シーケンスを実施した FI 幹細胞 RNA-seq は、1 種類が Acr-GFP/CAG-GFP

挿入を持つ 129xB6 ヘテロ系統由来であり (FI-SC2)、もう 1 種類が論文に採用された Oct4-GFP 挿入を持つ B6 ホモ系統由来データに 10%程度の別細胞 (CD1 の可能性が高い) 由来データが混じったもの (FI-SC3) となっている。これら 2 種類の TS 細胞 RNA-seq データ、3 種類の FI 幹細胞 RNA-seq データは、どのデータを採用するかにより、Letter Fig. 2i に示された樹形 (発現プロファイルの類似度に基づいた系統樹) が変わることが確認された。これらの複数のデータから論文に採用されたデータを取捨したのは小保方氏と笹井氏であるが、その理由は、小保方氏によれば、サンプルの中で中間的なものを示そうと考えたとのことであった。

(評価)

小保方氏が様々なバックグラウンドの細胞を寄せ集めて RNA-seq 解析、ChIP-seq 解析を行ったことは自明であり、論文の記載や公共データベースに登録時の記載と異なる系統や GFP 挿入のあるマウスの使用や、本来比較対象とならないデータを並べて論文に使用したことは不正の疑いを持たれて当然のことである。しかし、聞き取り調査などを通じて小保方氏は「条件を揃える」という研究者としての基本原理を認識していなかった可能性が極めて高く、意図的な捏造であったとまでは認定できないと思われる。一方、FI 幹細胞データに関しては当初の解析結果が同氏の希望の分布をとらなかったこと、それにより同氏が追加解析を実施していること、当初解析結果と追加解析結果で使用したマウスの種類も含め結果が異なること、複数細胞種を混ぜた可能性が高いこと (故意か過失かは不明) から不正の可能性が示されるが、どのようにサンプルを用意したかを含め同氏本人の記憶しかないため、意図的な捏造との確証を持つには至らなかった。よって、捏造に当たる研究不正とは認められない。

なお、RNA-seq はライブラリ調製の前までを小保方氏が行った上で GRAS がシーケンスしており、GRAS 内に残されていたオリジナルデータの確認により、シーケンス後に計算機上で混ぜられたものではないことが確認されているため、GRAS に持ち込まれた段階で混入していたと考えるのが妥当である。

2-3-2. 論文の図表や本文等に関する疑義の調査

1) Article Fig. 5c について

細胞増殖率測定グラフにおいて、ES と STAP 幹細胞の細胞数測定のタイミングが不自然な点

(調査結果)

本件については、図表を作成した小保方氏本人に対して、3 回にわたる聞き取り調査を行った。その結果、以下のことが判明した。

- (1) STAP 幹細胞と ES 細胞の増殖曲線の日にちのズレについて、小保方氏は、それらの増殖実験を別個に行ったためにズレが生じたと説明した。また、使用した STAP 幹細胞は FLS であり、ES 細胞については、記憶がないとのことであった。実験ノートにも、この実験の記述は見つからなかった。実験を行った時期は、聞き取り調査時の小保方氏の記憶によると、ES 細胞を 2011 年の春から夏にかけて、STAP 幹細胞を 2012

年の1月下旬～2月に培養を開始したということだが、小保方氏の出勤記録では、この頃に3日に1回、実験ができた時期は見つからなかった。

- (2) 細胞の計測について、小保方氏は、最初は細胞数を計測して培養を開始し、コンフルエントになるまで培養した、コンフルエントになった細胞をトリプシン処理した後、コンフルエントになった細胞数は129B6 F1ES1の細胞数を参考に 10^7 個と計算し、再びコンフルエントになるまでにかかった日時をグラフ化したと説明した。また、同氏はコンフルエントになった細胞を1/5～1/3に希釈して植え継ぎし、多くの場合は3日ごと植え継ぎし直したが、出張などにより植え継ぎのできない場合は、細胞の希釈率を変えて、コンフルエントになる時間を調整したと説明した。この説明から、小保方氏は細胞数の計測が重要なことは認めながら、植え継ぎ時に細胞数を正確に計測していなかったことを認める説明だった。
- (3) なお、細胞増殖率測定グラフの作成につき、小保方氏は聞き取り調査において、若山氏から、Yamanaka & Takahashi の Fig. 1d の様な図が欲しい、と言われて作成した、と繰り返し説明し、この点については聞き取り調査で若山氏も認めていた。また、小保方氏はこの細胞増殖率測定グラフについては、若山氏にも報告を行っていたと説明しているが、若山氏は、細胞増殖率測定グラフについては小保方氏より実験は終わったとは聞いたが、内容は全く知らなかったと説明した。

(評価)

この実験は行われた記録がなく、同氏の勤務の記録と照合して、Article Fig. 5c のように約3日ごとに測定が行われたとは認められない。小保方氏の説明を聞いた限りでは、同氏は細胞生物学の最も基礎となる細胞増殖率測定に必要な「細胞数の計測」という手技の原理と方法は理解し、最初はそれによって行っていたものの、途中からはコンフルエントになった状態の細胞数を 10^7 とみなし、計測を怠ったものと判断した。特に、小保方氏は植え継ぎ時に細胞数を正確に計測せずに、Article Fig. 5c を作成していたことを自認しているが、そうだとすると、この図は、細胞増殖率を測定したものとしては全く意味をなさない。同氏が細胞数の計測という最も基本的な操作をしていないこと、また希釈率についても1/5と説明したり、1/8から1/16と説明したりしていること、オリジナルデータによる確認もできないことから、小保方氏の捏造と認定せざるを得ない。小保方氏は、1人で細胞数を計測し、細胞増殖率測定グラフを作成したことを認めているところ、小保方氏によってなされた行為はデータの信頼性を根底から壊すものであり、その危険性を認識しながらなされたものと言わざるを得ない。よって、捏造に当たる研究不正と判断した。

若山氏は、細胞増殖率測定グラフ作成を小保方氏に提案した研究室の主宰者であり、小保方氏をシニア研究者として指導監督するとともに、共同研究者として、データの正当性、正確性について十分な注意を払うことが求められていた。若山氏は細胞数の計測や増殖曲線の作成に直接関与したものではないが、指導監督を怠り、データの正当性、正確性について検証することなく、このような捏造を生じさせたことの責任は過失とはいえ重大である。

2) Article Fig. 2cについて

- ・ メチル化を示すいくつかの黒丸および白丸の整列に乱れがある点 (Oct4-GFP⁺cells の Oct4 promoter)
- ・ DNA メチル化解析データについて Oct4 の CD45⁺と Cultured CD45⁺、および Nanog の ES と Cultured CD45⁺、Nanog の CD45⁺と Cultured CD45⁺が酷似している点
- ・ オリジナルデータとの不一致がある点

(調査結果)

CDB 若山研におけるプログレスレポート (PR) にて提示された資料、論文原稿の各バージョンで示された図、実験を担当した CDB 若山研メンバーより提供された実験ノート記録、GRAS のコンピューターに残っていた実験データを照合し、PR 資料や論文図に示されたデータの信憑性を検討した。また、小保方氏に作図法やデータ処理について聞き取り調査を行った。その結果、以下のことが判明した。

- (1) 図として提示されている結果は、以下のような経緯をたどっていた。PR 資料では、2011 年 9 月 22 日に最初のデータ (非処理細胞、スフェア Oct4 発現細胞、および ES 細胞の Oct4 遺伝子および Nanog 遺伝子のプロモーター領域のメチル化) が提示され、その後、2011 年 11 月頃にも提示された。この 2 回の資料は同じ実験結果を示していると判断されたが、これらデータの真贋性を裏付ける実験データやノート記録を確認することはできなかった。なお、これら PR 資料で ES 細胞とスフェアの結果が入れ替わるなど、小保方氏のデータ取扱いの杜撰さがうかがえた。

その後、2012 年 4 月 12 日付けの PR 資料に全く別の実験結果が図として提示され、この図は 2012 年 4 月の Nature 投稿原稿、Cell 投稿原稿でも使われ、最終的に Article Fig. 2c として発表された。この図では、メチル化を示す黒丸の配置に一部乱れがあり、手動で作図したと考えられた。また、CD45 陽性細胞 (CD45⁺および Cultured CD45⁺) のデータについては、両者のパターンが酷似していた。

また、STAP 幹細胞についてもメチル化解析が行われ、この結果は 2013 年 3 月に投稿された Letter 原稿 Fig. 3 として初めて提示され、最終的には Article Extended Data Fig. 8d として発表されている。この図でも CD45 陽性細胞におけるメチル化が示されているが、Oct4 遺伝子、Nanog 遺伝子いずれのプロモーターも Article Fig. 2c と比較して、メチル化程度が低いことが特徴的である。

- (2) CDB 若山研メンバーが GRAS に依頼し取得され、GRAS に残されていた配列データを解析した結果、これら配列データを用いて Article Extended Data Fig. 8d が作図されたと考えられた。ただし、データの選別 (シークエンスした DNA クローンの選別) が行われており、また、STAP 幹細胞については異なる細胞のデータが作図に使われるなど、意図的なデータ取扱いがあった可能性を否定できない。

- (3) Article Fig. 2c は、2012 年 4 月に投稿論文原稿図として現れているが、それ以前に小保方氏は計 3 セット (2011 年 10 月 27 日 1 セット、同 11 月 17 日に 2 セット)、GRAS に DNA 配列解析を依頼していることが判明した。そのサンプル名には bisulfite

とあること、また11月17日の2セット分についてはそれぞれ「oct4」、「nanog」との記述もあることから、これはメチル化DNA解析であったと判断した。「oct4」については96クローンのシーケンスが行われ、作図に利用可能な高精度配列情報は74クローン分であった。しかし、この74クローン分のデータを用いてFig. 2cのOct4プロモーターの図を作図することは不可能であった。例えばFig. 2cでは11か所中メチル化部位が1か所以下のクローンが18クローンあったことを示すが、シーケンス結果でこのようなパターンを有したクローンは3クローンのみであった。アライメントできなかった低品質配列クローンを含めても、この図を作ることは不可能であったと考えられた。

また、「nanog」については96クローン中40クローンが作図に使用可能と考えられたが、これらを用いてもFig. 2cに示されたNanogプロモーターの結果は得られない。Fig. 2cには100%メチル化クローンが15クローン存在するが、シーケンス結果でこのようなクローンは最大で7クローンしか存在しなかった。アライメントできなかった低品質配列クローンを含めても、この図を作ることは不可能であった。

- (4) 小保方氏の聞き取り調査から、メチル化のデータを取りまとめる際に、仮説を支持するデータとするために意図的なDNA配列の選択や大腸菌クローンの操作を行ったことが確認された。この点について、小保方氏から誇れるデータではなく、責任を感じているとの説明を受けた。

(評価)

CDB若山研のPR資料において図の取り違えがあったこと、Article Fig. 2cについて裏付ける実験記録の存在が確認できないことなど、小保方氏のデータ管理は杜撰であった。のみならず、小保方氏は、自認するとおり、得られたデータのうちの一部だけを仮説に沿って意図的に選別して提示し、データの誤った解釈を誘導する危険性を生じさせた。小保方氏はこのような危険性について認識しながらデータを選別したうえ、手動で作図して存在しないデータを新たに作り上げたものである。よって、捏造に当たる研究不正と判断した。

このようなことが行われた背景には、共同研究者によるデータに対する過剰な期待があったことが推察された。若山氏は、上記のメチル化解析を小保方氏が行った研究室の主宰者であり、シニア研究者として小保方氏を指導監督するとともに、共同研究者として、データの正当性、正確性について十分な注意を払うことが求められていた。若山氏はデータの意図的な選別・提示に直接的に関与したとまでは認められないが、小保方氏が若山氏の過剰な期待に応えようとして捏造を行った面も否定できない。少なくとも若山氏は、小保方氏の指導監督を怠り、データの正当性、正確性について検証することなく、このような捏造を誘発したと認められ、その責任は過失とはいえ極めて重大である。

3) Article Fig. 2e と Extended Data Fig. 4a-c について

論文のArticle Fig. 2eはOct4-GFP⁺ cells、Extended Data Fig. 4a-cはOct4-GFP⁻ dim cellsとの説明が、テラトーマ試料のDNA解析結果と齟齬がある点

(調査結果)

テラトーマのスライドグラス試料「6weeks+PGA 12/27 移植 Haruko」を顕微鏡で確認したところ、Article Fig. 2e と Extended Data Fig. 4a-c の両方の画像が得られた。一方、同試料の DNA 解析により、この試料は ES 細胞 FES1 であることが判明した。

(評価)

同じスライドグラスから得られた画像を、2つの異なる試料から得られたと偽った捏造の可能性が考えられた。しかし、他方では、撮影後に過失による画像の取り違えがあった可能性も考えられた。よって、研究不正とは認められない。

4) Letter Extended Data Fig. 1a について

- ・ 2N キメラの写真ではなく、Article Extended Data Fig. 7d と同じ 4N キメラ胎児胚の写真の疑いがある点(論文撤回理由 2) (これについては、2014 年 5 月 10 日に著者から報告、5 月 21 日に報道されている)
- ・ この写真で胚の一部を胎盤と誤同定している可能性がある点

(調査結果)

4N キメラ胚であることは、マウス胚撮影に用いた PC に残存する写真(2011 年 11 月 28 日撮影)と若山氏の実験ノートから確認できた。論文の図の説明には 2 つの矢印があって、胎盤と卵黄嚢とされているが、専門家の意見によれば 2 つとも卵黄嚢である可能性が高い。

(評価)

2N キメラか 4N キメラかは、論文の重要な論点とは考えられず、過失による可能性が高いと判断した。STAP 細胞の胎盤への寄与は、Letter の論点として重要であり、研究の価値を高めるために強引に胎盤と断定した可能性があるが、調査により得られた証拠に基づき認定する限り、研究不正とは認められない。なお、図の説明にある「B6GFP × 129/Sv」は、最初にメス、その後でオスの遺伝的背景を書く通常の表記法では「129/Sv × B6GFP」が正しいが、不注意による間違いと思われる。

5) Letter Fig. 1a、1b について

- ・ Letter Fig. 1a と同 Fig. 1b が酷似しており、1a は ES 細胞のキメラではなく STAP 細胞由来のキメラと思われる点(論文撤回理由 1)
- ・ Letter Fig. 1a は、論文では胎盤の GFP 蛍光像の長時間露光像と説明されているが、コントラスト補正をしても左右のシグナルに差異が見られず、長時間露光像ではない可能性がある点(論文撤回理由 3)

(調査結果)

Letter Fig. 1a が同 Fig. 1b と同様に STAP 細胞由来のキメラである点は、蛍光顕微鏡

付属のハードディスクに残存する写真（2012年7月17日撮影）と若山氏のメモにより確認した。長時間露光の写真はハードディスクに存在しなかったため、論文のこの記述は誤りと考えられる。一方で、デジタル的に増感させた痕跡も確認できなかった。

（評価）

誤りであることは確実である。STAP細胞の胎盤への寄与はLetterの論点として重要であり、研究の価値を高めるために強引に胎盤と断定した可能性があるが、悪意であったと認定することはできず、調査により得られた証拠に基づき認定する限り、研究不正とは認められない。

6) Article Fig. 3bについて

- ・ コントラスト補正をすると、ControlではRチャンネルにシグナルが見られ、Low-pH-treated cellsとは比較できない画像である点
- ・ ControlのBright-fieldとOct4-GFP画像をシグナル補正して重ね合わせると、赤色が発色している位置と細胞の位置が一致せず同一視野の写真とは考えられない点

（調査結果）

小保方氏に対し繰り返しオリジナルデータの提出を求めたが、提出されなかった。またCDBおよびCDB若山研の蛍光顕微鏡附属コンピューターのハードディスクの中にもオリジナルデータと考えられるものを見つけ出すことはできなかった。

（評価）

作図に用いた画像ファイルが本来の対応関係にないことは明白である。ControlのBright-fieldとOct4-GFPの画像が対応していないことは、取り違いによると考えられた。Oct4-GFPについてControlとLow-pH-treated cellsの間でRチャンネルのシグナルに違いがある点については、画像記録時の感度や露光時間など条件が異なる可能性（本来は同一条件で記録することが求められる）、画像に対してソフトを用いて異なる処理をした可能性などが考えられた。これらは、意図的な不正操作の可能性はあるが、他方、機器やソフトに対する知識不足によって引き起こされた間違いや画像ファイル取り違いの可能性も否定できないことから、調査により得られた証拠に基づき認定する限り、研究不正とは認められない。

7) Article Extended Data Fig. 2fについて

Bright-fieldとOct4-GFP画像を重ね合わせると、同一視野から得られた写真ではないと考えられる点

（調査結果）

小保方氏にオリジナルデータの提出を求めたが、提出されなかった。

(評価)

小保方氏からオリジナルデータが提出されなかったため、不一致の認定を行うことはできず、研究不正とは認められない。

8) Article Extended Data Fig. 5f および Article Extended Data Fig. 8k について

H3K27me 染色の R チャンネルに画像情報が殆ど含まれていない。R チャンネルの削除、若しくは、極端な調整が行われたと考えられる点

(調査結果)

小保方氏にオリジナルデータの提出を求めたが、提出されなかった。

(評価)

小保方氏からオリジナルデータが提出されなかったため、不適切な操作が行われたかどうかの確認はできず、研究不正とは認められない。

9) Article Fig. 2b、3d、3g、Extended Data Fig. 1a、Extended Data Fig. 6d についてエラーバーが不自然である点

(調査結果)

本件に関しては、Extended Data Fig. 1a について過去に投稿された論文原稿に遡りグラフが投稿毎に一致しないこと（特にエラーバーのサイズ、有無など）を確認した。小保方氏本人に対する聞き取り調査で、図を描画ソフト等で修正したことはないかを含め原因の心当たりを確認したところ、修正したことはないが、本人としてもエラーバーが不自然であること、ただ表計算ソフトの問題でこのようなことはよく起きると考えていたとの回答を得た。パソコンに入っていると思われるオリジナルデータの提出を小保方氏に求めたが、提出されなかった。

(評価)

小保方氏本人も図が不正確であると認識していたと認められ、本来であれば別のソフトウェアを用いるなりすることで、正確な図を描くことが当然であるが、同氏にその意識が欠如していたため起こった、意図的ではない間違いであったとも考えられる。表計算ソフトの問題で起きる事は考えにくいですが、オリジナルデータの確認がとれないため、調査により得られた証拠に基づき認定する限り、研究不正とは認められない。

10) Letter Extended Data Fig. 5g、Letter Fig. 3c-d について

- ・ GFP 蛍光と integrin alpha7(PE) 蛍光の漏れこみの補正が行われていない(もしくは、加えて、検出器の感度設定がサンプル間で異なる)ことが疑われる点
- ・ Letter Fig. 3c、3d では FACS-Sorting 法で integrin alpha7a⁺ と dim の FI 幹細胞を分取しているが、上記の疑義により、これらの細胞集団の解析結果の信頼性にも疑問が生じる点

(調査結果)

小保方氏と関係者への聞き取り調査から、小保方氏は主に CDB に設置されていた装置 (FACS Aria) を用いて FACS 解析を行っていた。しかし、装置と技術に習熟する機会がないまま、実験を行っていたことを確認した。

上段と下段のプロットでは、右 45 度方向に多くの細胞が分布していることから、死細胞除去が適切に行われていなかった、あるいは GFP とインテグリン抗体に付与した蛍光色素の間で光の漏れ込みがあったと考えられ、十分な条件測定がなされていなかったと考えられた。

上段のインテグリン抗体染色と下段の control IgG 染色について GFP シグナルを比較すると、GFP シグナル強度分布 (縦軸方向の分布) が大きく異なる。同じ実験で得られた細胞サンプルを二つに分け、それぞれインテグリン抗体とコントロール抗体で染色した実験であれば、用いた抗体の種類に関わらず GFP シグナル分布は同様のものとなるはずである。この点で不自然なデータと考えられた。

このように問題を多数含む FACS データについて、共同研究者から問題点を指摘されたことはないと言及小保方氏は説明した。

使用された装置に残っていたデータを再解析したが、論文の図に合致すると思われるものを特定することはできなかった。

(評価)

蛍光色素を多重に用いる FACS のような実験では、死細胞除去や蛍光色素間のシグナルの漏れ込みに細心の注意を払う必要がある。一般的に Letter Extended Data Fig. 5g のように対角線に沿ったプロットが得られ、二種類の蛍光色素シグナル間に強い相関がある場合、死細胞の混入やどちらか一方のシグナルが他方のシグナル波長に漏れ込んでいることが強く示唆される。通常、FACS 測定では実験の度に単一抗体でそれぞれ染色したサンプルを準備し、それらを用いて検出チャンネル間の漏れ込みを評価し、補正をかけることで漏れ込みを最小限にする。小保方氏への聞き取り調査の結果も踏まえると、同氏は装置に関する知識がほとんどないまま、対照実験や必要な補正等を行うことなくデータを取得していたと判断した。さらに GFP シグナル分布が上段と下段のプロットで大きく異なることから、なんらか適切ではない実験操作あるいは測定が行われた可能性が高いと判断した。このように小保方氏のみならず共同研究者らも解析法について未熟だったとことを勘案すると、Article Fig. 1c、Letter Fig. 3c-d の実験についても適切な測定条件のもとに実施されたのか、疑問が残るが、オリジナルデータを調査することはできなかった。よって、調査により得られた証拠に基づき認定する限り、研究不正とは認められない。

1 1) Letter Fig. 2b-e、Fig. 3、Extended Data Fig. 5、Fig. 6について

Oct4-GFP の FI 幹細胞が保存されておらず、作製されたとされるこの幹細胞の存在が確認できない点 (Oct4-GFP の挿入を持つ FI 幹細胞が Letter Fig. 2b-e、Fig. 3、Extended Data Fig. 5、Fig. 6 で使用されているが、小保方研と CDB 若山研のストックの FI 幹細胞を

調査した限りでは、Acr-GFP/CAG-GFP遺伝子を持つものしかなく、Oct4-GFPを有するFI幹細胞が見当たらない。系統として樹立されなかったのではないか)

(調査結果)

若山氏と小保方氏への書面調査により、FI幹細胞CTS1は、若山氏が渡したCAG-GFPを有する129X1とB6Nを掛け合わせて誕生したF1マウスを材料に小保方氏が作製したSTAP細胞から、若山氏が2012年5月に樹立したもの（5月21日に作製開始してより5月28日樹立完了）であることが判明した。

また若山氏の実験ノートから、上記のあと（2012年7月9日）にも若山氏がFI幹細胞株を作製していることも判明した。このときは使用したマウスの記載がなく、遺伝的背景は不明であった。ただし、若山氏の聞き取り調査から、CAG-GFPを有する129B6F1マウス以外（論文記載のOct4-GFPの挿入を持つマウスを含む）からFI幹細胞を樹立した記憶はないことが明らかになった。なお、小保方氏は論文に使ったFI幹細胞を樹立したことはなく、以上のFI幹細胞株の樹立はすべて若山氏が行ったことが明らかになった。

以上の2回に分けて作製されたFI幹細胞株は、CDB A棟のフリーザー内に「Ca11 TS-1」、「Ca11 TS11~TS13」として保管されていた。またこれらは、若山氏の実験ノートの記載「2012年5月25日作製（1ライン）」と「2012年7月9日作製（3ライン）」に一致していた。

このうち論文（Fig. 2など）に使用されたFI幹細胞CTS1（Ca11 TS-1）に対して理研がゲノム解析を実施した結果、論文に記載されたOct4-GFPの挿入は確認できず、代わりにAcr-GFP/CAG-GFP遺伝子が挿入されていることが判明した。またFI幹細胞CTS1のゲノム配列パターンは、それ以前に作製されていたES細胞FES1（2005年にAcr-GFP/CAG-GFPマウスより樹立）とSTAP幹細胞FLS3（2012年1月28日～同年2月2日にAcr-GFP/CAG-GFPマウスより樹立）と完全に一致することが判明した。

なお小保方氏への書面調査で、小保方氏はSTAP細胞を作製する際に若山氏から渡されたマウスの遺伝的背景を把握していなかったこと、また、若山氏から（Oct4-GFPを有する）GOFマウスを渡されたものと思っていたことが明らかになった。

(評価)

Letterに使用されたFI幹細胞CTS1にOct4-GFPの挿入がないことが実証された。またこの細胞株以外にOct4-GFPが挿入されたFI幹細胞が作製された事実も明らかにできなかった。

一方、2回目のFI幹細胞作製の際の若山氏の実験ノートにマウスの遺伝的背景の記載はなかったことから、2回目に作製されたFI幹細胞株は、GOFマウス由来のSTAP細胞から樹立されたFI幹細胞にES細胞FES1が混入し、これが残存した可能性は否定できなかった。

以上より、本調査委員会では論文に記載されたOct4-GFPが挿入されたFI幹細胞株が作製された証拠を得ることはできなかった。したがって、Letter Fig. 2b-e、Fig. 3、Extended Data Fig. 5、Extended Data Fig. 6はOct4-GFPが挿入されたFI幹細胞株ではなく、Arc-GFP/CAG-GFPが挿入されたFI幹細胞株またはOct4-GFPが挿入されたFI幹細胞株とArc-GFP/CAG-GFPが挿入されたES細胞FES1の混在サンプルによって作製された可能性がある」と判断した。

しかしながら、前述のとおり、調査により得られたすべての証拠を総合しても ES 細胞

混入の行為者が特定できず、研究不正とは認められない。

1 2) Letter Fig. 2i、Extended Data Fig. 6dについて

- ・ Letter Fig. 2iは2012年にTruseqによるRNA-seqを行い、そのデータに基づいて作成した系統樹と考えられるが、論文の図では系統樹の一部が除かれている点
- ・ Letter Extended Data Fig. 6dは、2012年にSMARTERキットによるRNA-seqを行い、そのデータをもとに作成した系統樹と考えられるが、このとき解析結果を返された際にはCallus1（当時のCDB若山研の命名法ではSTAP細胞1という意味）と名付けられていた試料が、Letter ではCD45⁺となっている点

（調査結果）

RNA-Seqの解析と系統樹の作成は、CDB機能ゲノムユニットおよびGRASのメンバーが担当した。この間、マウスのリファレンスゲノムのバージョンアップがあったことから、再度マッピングをやり直し、系統樹を作図した。当初の系統樹では、Callus1とCallus2と小保方氏が呼んでいたサンプルを含むが、CD45⁺サンプルはなかった。2013年3月のNature再投稿に際して、図のスタイル変更とサンプル名付加の要請が小保方氏よりあった。その際、小保方氏はCallus1とCallus2がそれぞれSTAP細胞とCD45⁺細胞であると資料に書き込み、それに従って図の改訂を行った。

TSおよびFI幹細胞のデータについてはそれぞれ複数のサンプルを準備してシーケンスを行ったが、予想外にデータのばらつきが認められた。これについて、小保方氏の説明によれば、FI幹細胞については3サンプルのうちの系統樹上で3サンプルの中間に位置するものを最終的に作図に用いたとのことであった。TSについては細胞培養時に分化したことが考えられたことから、丹羽研のメンバーが培養・サンプル調製を行ったものを追加して作図に用いた。

（評価）

CDB 若山研における Callus という言葉の使用は、のちに STAP 細胞と呼ばれるものを示していた。CD45⁺細胞は Callus/STAP 誘導に用いる細胞であり、CD45⁺細胞サンプルに Callus という名称をつけサポートユニットへ解析依頼するという行為は、混乱を招く可能性が大きいものであった。CDB 若山研では異なるサンプルに区別困難な類似名称を付与することが散見されたが、そのような慣習も遠因となった可能性がある。また系統樹を GRAS スタッフに依頼する過程で、解析結果を受けとめ討論することなく、単に論文に図を含めるための改訂依頼、という印象を与える対応は、共同研究として十分なものではなかった。しかし、調査により得られた証拠に基づき認定する限り、研究不正とは認められない。

1 3) 予備調査の結果、本調査での検討は不要とされた以下の事項についても検討したが、研究不正行為はないと判断した。

- (1) Article Fig. 1hについて
ヒストグラム上部が欠けており、正確なデータの評価ができない点
- (2) Article Extended Data Fig. 2bについて
24時間追跡した細胞のCD45抗体の現象を見ているが、同一細胞をトラッキングしているのかが不明な点
- (3) Article Extended Data Fig. 5gについて
データ3とデータ4の間に、二つのグラフを張り合わせたかのような不自然な隙間がある点
- (4) Article Extended data Fig. 8eについて
STAP幹細胞とESの写真の取違いが疑われる点
- (5) Letter Fig. 4bについて
STAP細胞とES細胞のラベルの付け間違いが疑われる点(論文撤回理由4)
- (6) Letter Extended Data Fig. 1cについて
左右の写真のサイズが異なり重なり合わない点

2-3-3. 論文作成過程における疑義の調査

1) TCR遺伝子再構成に関する不整合データ隠蔽の疑いについて

(調査結果)

小保方氏はTCR遺伝子再構成に関する実験を開始し、STAP細胞を含む細胞塊、一部のSTAP幹細胞にTCR遺伝子の再構成が見られることをCDB若山研で最初に報告した。しかし、後に8系統のSTAP幹細胞のTCR遺伝子の再構成を確認したところ、再構成は確認されなかった。なお、この8系統は小保方氏が継代培養を繰り返していた細胞であった。

さらに、この実験は小保方氏の依頼で、CDB若山研メンバーによるTCR遺伝子再構成の確認実験が行なわれた。しかし、このCDB若山研メンバーの実験ノートによれば、実験の結果TCR遺伝子の再構成は確認されなかった。

以上のことから、小保方氏は最初の実験でTCR遺伝子再構成があることを報告したが、後の小保方氏自身の実験、およびCDB若山研のメンバーに確認を依頼した実験ではTCR遺伝子の再構成を認めるに至らなかったことから、実験データに不整合が存在したことは明らかである。

丹羽氏は2013年1月に論文作成に加わった際に、小保方氏が継代培養を繰り返していた8系統のSTAP幹細胞のTCR遺伝子の再構成は確認されなかったと聞いたと説明している。さらに、丹羽氏は笹井氏に対して、TCR遺伝子再構成に関するデータを論文に含めることについては慎重にすべきとの意見を伝えた。小保方氏の追試が不成功であった点に関して、笹井氏らはSTAP幹細胞がヘテロな集団であり、長期的な継代培養によ

り再構成が起っていた細胞が消失したという解釈を採った。なお、Article 論文には、STAP 細胞を含む細胞塊の TCR 遺伝子再構成については記載されたが、STAP 幹細胞自体の TCR 遺伝子再構成実験の結果については記載されなかった。

一方、丹羽氏は、Protocol Exchange への投稿は、発表後、この論文ではすぐに再現性についてクレームがつくと思った。小保方氏のプロトコールでは不十分と考えそれを詳細にしたものを早急に公表すべきと考えた、と説明した。さらに、当時、小保方氏と笹井氏はコリジェンダム (corrigendum) で相当に多忙であり、エディターと応答できる者が必要ということで、自分が執筆した、と説明した。

2014 年 3 月 5 日に Protocol Exchange に公表された詳細なプロトコールの「STAP stem-cell conversion culture」「2. After 4-7 days of…」のプロトコールの「IMPORTANT」(iii)に、8 系統の STAP 幹細胞には TCR 遺伝子再構成が認められない、という結果の記載が存在している。

また、丹羽氏は「若山さんは、最初 STAP 幹細胞の初期のパッセージでは TCR 遺伝子再構成はあった、と小保方さんから聞いたと言っている」と説明した。

(評価)

TCR 遺伝子再構成に関しては、最初小保方氏が再構成を確認したとされたが、その後の CDB 若山研メンバー、および小保方氏自身の追試で失敗した。その事実にもかかわらず、実験結果を自分たちのアイデアに沿うようなものを採用したものの、後に、Protocol Exchange で 8 系統の STAP 幹細胞には TCR 遺伝子再構成が認められないという結果が記載されたこと、並びに丹羽氏への聞き取り調査における上記の説明から、意図的な隠蔽ではなく、研究不正とは認められない。

2) STAP 作製のプロトコールが論文の記載と異なる問題 (酸性化に関する ATP 不記載) について

(調査結果)

Article では STAP 作製のプロトコールにおいて、低 pH 処理に HCl を用いたと記載されているが、小保方氏および若山氏による聞き取り調査から、実際の STAP 細胞作製過程においては主に ATP が使用されていたことが判明した。この点につき、小保方氏は聞き取り調査において、HCl でも作製できており、論文記載の実験の一部は HCl で実施したと説明し、若山氏も同様に、ATP と HCl の使用では実験結果にさほど差がなく ATP 使用の方が若干成績がよかった程度の認識であったと述べ、Protocol Exchange の執筆をした丹羽氏も、小保方氏から Article の実験ではすべて HCl を使ったと聞いていたので HCl を記載したと説明した。

HCl を用いたとの記載は、2013 年 9 月に送った Nature Article の改訂原稿から認められ、それ以前の投稿原稿では酸性化に使われた物質は明記されていない。

(評価)

上記 3 者の説明は、ATP 不記載の経緯につき若干の齟齬はあるものの、その根幹は Article 論文記載の実験に HCl を使用したとの小保方氏の説明に依拠すると見られるとこ

ろ、前述のとおり小保方氏から HCl を使用した実験の特定とそのオリジナルデータの提出がなされていないため、客観的証拠をもって同氏の説明の真偽を判定するに至らず、調査により得られた証拠に基づき認定する限り、研究不正とは認められない。

3) STAP幹細胞FLSのGFP挿入パターンがホモではなくヘテロであったことを著者が認識していながら、その実験の不整合の原因を確認しなかった疑いについて
(なお、論文に書かれているB6GFP×129/Svや129/Sv×B6GFP等の表記は、実際にマウスの交配を行った若山氏によれば、間違いとのことである。)

(調査結果)

STAP幹細胞FLSから作製した4Nキメラを戻し交配して得た子にGFPを含まないマウスが含まれていた。このことは、STAPFLS幹細胞FLSを作成したマウスは129 (CAG-GFPホモ) と B6 (CAG-GFPホモ) を交配したF1であるとの、若山氏の認識と矛盾する結果だが、若山氏と小保方氏はこの矛盾について、それ以上の追求をしなかった。

本件について、若山氏は質問状に対する回答で「その当時、STAP現象は絶対に本当だと思っていたため、この疑問点は自分のマウスの交配のミスによるものだと判断しました」と回答している。そして、若山氏の結論として「誰かの実験を手伝ったとき、つじつまが合わない現象が起こった場合、真っ先に自分の担当した部分を疑うのは当然」とも回答した。

(評価)

上に述べた状況から、CDB若山研のマウスの飼育管理体制は若山氏が中心となり、それに数名のスタッフが携わっていたと、若山氏の説明からうかがうことができる。また、マウスの系統管理も、系統間のコンタミネーションに対しては、部屋、あるいはラックを変えるなどの防止策は採られていた。一方、小保方氏に関しては、マウスの飼育を若山氏に全面的に依存していたことから、この問題に関する責任は低いものと認められる。以上から、その実験の不整合の原因を確認しなかったという点については「若山氏のミス」ということで片付けられ、問題であることは認めながらも、その原因を追求しないままにしておいたことは、科学者として避けるべきであった。しかし、調査により得られた証拠に基づき判断する限り、研究不正とは認められない。

3. まとめ

本調査委員会は、理研の「科学研究上の不正行為の防止等に関する規程」(平成24年9月13日規程第61条)に基づいて設置され、この規定に則って運営された。また、文部科学省の「研究活動における不正行為への対応等に関するガイドライン」(平成26年8月26日文部科学大臣決定)も参考にした。なお、規程は、本調査委員会設置後に改正されたが(平成26年11月25日施行)、附則(平成26年10月30日規程第74号)に基づき、不正行為の定義については改正前の規定に因った。

規程での不正行為とは、「捏造、改ざん、盗用」のことである。本調査委員会は、小保方氏が細胞増殖曲線実験(Article Fig. 5c)とDNAメチル化解析(Article Fig. 2c)において、

データの捏造という不正行為を行ったと認定した。このような不正行為が健全な科学の遂行と発展に大きな妨げになることは、言うまでもないことである。若山氏と丹羽氏については、不正行為は認定されなかった。

しかし、STAP 論文に関して、科学論文およびその基礎となった研究の問題点まで視野を広げると、ここで認定された研究不正は、まさに「氷山の一角」に過ぎない。たとえば、以下の4つの点をとってみても、非常に問題が多い論文と言える。

第一は、本調査により、STAP 細胞が多能性を持つというこの論文の主な結論が否定された問題である。その証拠となるべき STAP 幹細胞、FI 幹細胞、キメラ、テラトーマは、すべて ES 細胞の混入に由来する、あるいはそれで説明できることが科学的な証拠で明らかになった。STAP 論文は、ほぼすべて否定されたと考えて良い。これだけ多くの ES 細胞の混入があると、過失というより誰かが故意に混入した疑いを拭えないが、残念ながら、本調査では十分な証拠をもって不正行為があったという結論を出すまでには至らなかった。これは、本調査委員会の能力と権限の限界でもあると考える。

第二は、論文の図表の元になるオリジナルデータ、特に小保方氏担当の分が、顕微鏡に取り付けたハードディスク内の画像を除きほとんど存在せず、「責任ある研究」の基盤が崩壊している問題である。最終的に論文の図表を作成したのは小保方氏なので、この責任は大部分、小保方氏に帰せられるものである。また、STAP 幹細胞、FI 幹細胞、キメラマウス、テラトーマなどについて、作製後の解析を行ったのも大部分が小保方氏だが、その実験記録もほとんど存在しない。本当に行われたか証拠がない（行われなかったという証拠もない）実験も、いくつか存在する（細胞増殖率測定、Oct4-GFP を持つ FI 幹細胞の作製など）。

第三は、論文の図表の取り違え、図の作成過程での不適切な操作、実験機器の操作や実験法の初歩的な間違いなど、過失が非常に多いという問題である。これも、図の作成や実験を行った小保方氏の責任と考えられる。

第四は、このように実験記録やオリジナルデータがないことや、見ただけで疑念が湧く図表があることを、共同研究者や論文の共著者が見落とし、あるいは見逃した問題である。また、STAP 幹細胞やキメラについて明らかに怪しいデータがあるのに、それを追求する実験を怠った問題もある。これらに関しては、STAP 論文の研究の中心的な部分が行われた時に小保方氏が所属した研究室の長であった若山氏と、最終的に STAP 論文をまとめるのに主たる役割を果たした笹井氏の責任は特に大きいと考える。

最後の問題について、もう少し詳しく考察したい。小保方氏が実験記録を残さず、過失が非常に多いことを見逃した理由の1つは、プログレスレポートのあり方など、研究室運営のやり方に問題があったためではないだろうか。論文の共著者は論文原稿の最終版を全部読んで内容を承認する責任があるが、共著者全員がこの責任を果たしたのだろうか。STAP 幹細胞が急に効率良くできるようになった時に、若山氏は、それまで STAP 細胞塊をバラバラにしていたのを、引きちぎって注入するように変更したためと説明した。しかし、ここで再び細胞をバラバラにして注入する対照実験をしていれば、ES 細胞の混入を発見できた可能性がある。また、GFP がホモであるべきマウスがヘテロだった時（2-3-3の（3）参照）も、この疑念を追求する実験を行わなかった。このような追及の甘さは、論文発表を焦ったからではないだろうか。特許や研究費獲得や著名雑誌への論文掲載は、本来、悪いものではないが、それに夢中になるあまり、研究の中身への注意がおろそかになったことはないだろうか。以上のいずれかで適切な行動をとっていたら、STAP 問題はここまで大きくならなかった可能性が高い。

たまたま小保方氏と共同研究する立場にはなかった大部分の研究者も、もし自分が共同研究をしていたらどうなったかを考えると、身につまされることが多いだろう。

では、このような不祥事がふたたび起きないようにするには、どうしたら良いだろうか。上記の文科省のガイドラインには、「不正行為に対する対応は、研究者の倫理と社会的責任の問題として、その防止と併せ、まずは研究者自らの規律、および科学コミュニティ、研究機関の自律に基づく自浄作用としてなされなければならない。」と書かれている。本調査委員会の調査の基盤になった膨大な科学的検証データは、理研の研究者の熱意と努力によって収集されたものである。これを、STAP問題が生じた理研の内部から自浄作用が現れたと評価することもできる。また、理研だけでなく全ての研究者は、STAP問題を自分の研究室にも起こり得る問題と考え、今までよりいっそう思慮深い教育と研究室運営を行うべきだろう。不正防止が大きな流れになるためには、「捏造、改ざん、盗用」を重大な違反と考えるのは当然だが、それだけでなく「研究における責任ある行動」ないし「研究における公正さ」という観点から、より広い視野で研究者倫理を考え、教育を行う必要がある。そこで基礎となるのは、論文のインパクトファクターでも、獲得研究費の額でも、ノーベル賞の獲得数でもなく、自然の謎を解き明かす喜びと社会に対する貢献である。

STAP問題は科学者コミュニティに突き刺さった1本の矢である。それを抜いた後も、傷跡を癒し健康を取り戻すために、科学者コミュニティ全体の対応と努力が求められている。

最後に、本調査委員会の調査にあたり、遺伝子解析、図版の確認、資料提出等、時間と労力を惜しむことなく貢献して下さった、ライフサイエンス技術基盤研究センター 機能性ゲノム解析部門の Piero Carninci 氏、橋本 浩介氏、粕川 雄也氏、同ゲノムネットワーク解析支援施設 (GeNAS) の方々、同生命機能的イメージング部門 生命動態情報研究グループ 分子配列比較解析ユニットの工樂 樹洋氏、統合生命医科学研究センター 免疫器官形成研究グループの松田 正史氏、石倉 知征氏、多細胞システム形成研究センターの岡野 正樹氏、同非対称細胞分裂研究チームの今野 大治郎氏、末次 妙子氏、同形態形成シグナル研究チームの林 茂生氏、その他協力して下さった理研の多くの方々に深く感謝する。

以 上

研究論文に関する調査委員会 委員 (五十音順)

委員長	かつら いさお 桂 勲	大学共同利用機関法人情報・システム研究機構 理事 国立遺伝学研究所 所長
委員	いがらし かずひこ 五十嵐 和彦	国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科生物化学分野 教授
委員	いとう たけひこ 伊藤 武彦	国立大学法人東京工業大学 大学院生命理工学研究科生命情報専攻 教授
委員	おおもり かずし 大森 一志	大森法律事務所 弁護士
委員	くぼた たけお 久保田 健夫	国立大学法人山梨大学 大学院総合研究部環境遺伝医学講座 教授
委員	ごきた あきら 五木田 彬	五木田・三浦法律事務所 弁護士
委員	よねかわ ひろみち 米川 博通	公益財団法人 東京都医学総合研究所 基盤技術研究センター 動物実験開発室 遺伝子改変動物室 シニア研究員